

D/H EN ANILLOS DE CRECIMIENTO DE PINUS PINEA DEL P. N. DE DOÑANA: IMPLICACIONES PALEOCLIMATICAS

Granados-Páez S., Delgado-Huertas A., Reyes, E.

Laboratorio de Isótopos Estables. Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda 1, 18008 Granada. E-mail: sonia.granados@eez.csic.es, antonio.delgado@eez.csic.es, emilio.reyes@eez.csic.es

Abstract

A study of the D/H ratio in cellulose extracted from *Pinus pinea* in the Doñana National Park showed an inverse relationship with the amount of rainfall. The D values range from -5‰ y -61‰ (V-SMOW). The years of greatest rainfall correspond, in general, with the more negative isotopic values and vice versa. 1996 stands out as having the highest annual rainfall in recent decades and also the most negative D values. In contrast, the least negative values are seen in the period of drought in the early years of the 90s.

Key words: Hydrogen, stable isotopes, tree rings, cellulose

Resumen

Se ha estudiado la razón D/H de celulosa extraída de *Pinus pinea* del Parque Nacional de Doñana obteniendo una correlación inversa a la cantidad de precipitación. Los valores de δD están comprendidos entre -5‰ y -61‰ (V-SMOW). Los años de mayor pluviometría se corresponden, en general, con los datos isotópicos más negativos y viceversa. Destaca el año 1996, el más lluvioso de las últimas décadas, con el valor más negativo, y el periodo de sequía de principios de los años 90 donde se han obtenido los valores menos negativos.

Palabras clave: Hidrógeno, isótopos estables, anillos de árboles, celulosa.

1. Introducción

La composición isotópica del hidrógeno y oxígeno en el agua de lluvia de cada localidad está relacionada con parámetros climáticos y geográficos como son la temperatura, cantidad de precipitación, efectos estacionales, altitud, etc. Por tanto, los valores isotópicos de las aguas meteóricas están relacionadas con el clima; las razones isotópicas del oxígeno ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) queda reflejado en carbonatos, minerales de la arcilla o de la sílice que se originan en medios continentales, aportando una señal paleoclimática pero siempre con la incertidumbre de que existen dos incógnitas (valor isotópico de las aguas y temperatura) y un solo parámetro conocido que es la composición isotópica del mineral, lo que limita o complica su interpretación.

La señal isotópica del hidrógeno queda registrada en los anillos de crecimiento de los árboles sin que la temperatura juegue un papel importante en el fraccionamiento isotópico, lo que le confiere un gran interés en estudios paleoclimáticos (Libby *et al.* 1976; Yapp y Epstein, 1982; Edwards y Fritz, 1986; Lawrence y White, 1984; Krishnamurthy y Epstein, 1985). Descontados los efectos de altitud y latitud, la composición isotópica del agua dependerá fundamentalmente de la temperatura media anual y del efecto cantidad. También los procesos de evaporación son muy importantes en regiones de medias y bajas latitudes. Numerosos estudios han comparado la composición isotópica de los anillos de árboles y las aguas meteóricas obteniendo correlaciones próximas a 1 (Epstein y Yapp., 1977; Burk y Stuiver, 1981; White *et al.*, 1994). Sin embargo, los anillos de árboles no son un registro directo de la

composición isotópica de la precipitación ya que hay varios pasos en los que se producen fraccionamientos isotópicos desde el agua origen hasta la formación de celulosa.

El propósito de este trabajo es cuantificar y verificar el comportamiento de la señal isotópica del hidrógeno en ambientes de régimen pluviométrico muy irregular, como ocurre en el sur de la Península Ibérica, con el fin de establecer su potencial a la hora de abordar estudios de series más largas que incluyen periodos sobre los que no existen datos climáticos.

Fraccionamientos del Hidrógeno en los árboles

Aunque no existe un fraccionamiento isotópico en el momento que las raíces toman el agua del suelo (White et al., 1985; Ehleringer y Dawson, 1992; Dawson, 1993), el agua de las hojas suele estar enriquecida en D debido a los procesos de evapotranspiración (Craig y Gordon, 1965; Flanagan et al., 1991; Yakir, 1992), a partir de este momento se producen diversos procesos bioquímicos que dan lugar a un mayor fraccionamiento isotópico:

Fraccionamiento bioquímico

La fotosíntesis tiene una gran influencia en los valores de δD de la materia orgánica sintetizada. El transporte electrónico que ocurre dentro del cloroplasto discrimina contra el isótopo pesado 2H , con lo que el producto resultante está enriquecido en protio 1H (valores más negativos de δD), (Estep y Hoering, 1981), por tanto los azúcares producidos durante la fotosíntesis dentro del cloroplasto son más ligeros que los de los alrededores del agua de la hoja. Yakir y DeNiro (1990), calcularon que el factor de fraccionamiento del hidrógeno asociado al metabolismo autotrófico de los carbohidratos era de -171‰, mientras que unos años antes, Estep y Hoering (1981) estimaron que este fraccionamiento estaba ente -100‰ y -120‰ para las microalgas.

Existe otro fraccionamiento del hidrógeno en sentido opuesto, se trata del fraccionamiento del metabolismo heterótrofo de los carbohidratos estimado en +158‰ para *Lemma* (Yakir y DeNiro, 1990). Luo y Sternberg (1992), estimaron valores entre +144‰ y +166‰ para *Hordeum*, *Triticum* y *Ricinus*.

Intercambio isotópico durante la síntesis de celulosa

Yakir y DeNiro en 1990 demostraron que el metabolismo fotosintético afectaba a los valores de δD de la celulosa y observó que el 50% de los enlaces Carbono- Hidrógeno de la celulosa de la hoja eran intercambiables con el hidrógeno del agua durante la síntesis de celulosa. Aunque los enlaces carbono-hidrógeno de la materia orgánica no intercambian con el medio (Epstein et al., 1976), existen numerosas oportunidades de hacerlo, durante las reacciones de biosíntesis como la del NADP, isomerasas, reductasas, quinasas y carboxilasas (Luo y Sternberg, 1991, 1992; Yakir, 1992).

Después de la incorporación del agua de la hoja y del fraccionamiento autotrófico de los azúcares fotosintéticos, puede ocurrir un segundo fraccionamiento si hay un equilibrio de intercambio entre el carbohidrato y el agua del medio (agua del xilema en el caso de los anillos de árboles), Sternberg et al. (1986), Yakir y DeNiro (1990), y Luo y Sternberg (1992), propusieron que había sólo un intercambio parcial durante la síntesis de celulosa, en sus modelos para el δD y para el $\delta^{18}O$. Los valores de ambos isótopos de la celulosa de la hoja,

producidos por el metabolismo heterotrófico se expresan, según este modelo con la siguiente expresión:

$$\delta_c = f \cdot (\delta_w + \varepsilon) + (1-f) \cdot \delta_{\text{no intercambiable}}$$

donde δ_c , δ_w y $\delta_{\text{no intercambiable}}$ indican los valores de δD y $\delta^{18}O$ de celulosa sintetizada, agua del medio e isótopos estables no intercambiables del sustrato respectivamente, ε es el factor de fraccionamiento isotópico para el intercambio mediado por la enzima o adición de cualquier hidrógeno u oxígeno y f es la proporción de enlaces C-H o C-O que intercambian con el agua del medio.

La composición isotópica de la celulosa se puede expresar como función de las razones isotópicas de los azúcares del sustrato y del agua del medio con la célula (xilema, en el caso de los anillos de árboles). Por consiguiente la razón D/H de la celulosa de los anillos de árboles se puede calcular como sigue a continuación:

$$\delta D_{cx} = f_h \cdot (\delta D_{wx} + \varepsilon_{hh}) + (1-f_h) \cdot (\delta D_{wl} + \varepsilon_{ha})$$

donde f_h es la fracción de enlaces C-H que intercambian con el agua del medio, los subíndices **wl** y **wx** indican el valor del agua de la hoja durante la síntesis de sacarosa y el valor del agua del xilema respectivamente, ε_{hh} y ε_{ha} es el fraccionamiento para el hidrógeno en el metabolismo heterotrófico y autotrófico, respectivamente.

Como los valores de ε_{hh} y ε_{ha} suelen ser opuestos, el valor isotópico del hidrógeno de la celulosa del xilema (δD_{cx}) se aproxima al valor isotópico del agua del xilema (δD_{wx}).

2. Materiales y métodos

En este estudio, hemos seleccionado tres árboles (A, D y F) de la especie *Pinus pinea* del Parque Nacional de Doñana. Las muestras se trasladaron al laboratorio donde se secaron durante un día al aire libre. Luego se lijaron y dataron visualmente utilizando el método de datación cruzada (crossdating) (Stokes y Smiley 1968, Yamaguchi 1991). Se midieron las anchuras, con una exactitud de 0,01mm y se chequeó con COFECHA (Holmes, 1983). Posteriormente se extrajo la celulosa de cada anillo de crecimiento con el método de Brendel, et al. (2000).

Uno de los problemas que presentan estos análisis isotópicos es que el hidrógeno se intercambia fácilmente después de su formación o incluso durante su manipulación en el laboratorio. La celulosa contiene un 70% de enlaces C-H que se comportan como isotópicamente no intercambiables, sin embargo, el 30% restante, se comporta como hidrógeno intercambiable (se encuentra como hidroxilos, OH) (Epstein et al., 1976; Feng et al., 1993). El hidrógeno presente en los OH intercambia rápidamente con el agua ambiental (Heuser, 1944), por lo que no es útil para estudios paleoclimáticos. Para la determinación de las razones isotópicas D/H del hidrogeno no intercambiable, seguiremos el método propuesto por Schimmelmann, (1991), según el cual las muestras se equilibran con vapores de agua de diferentes composiciones isotópicas conocidas seguido de la determinación de las razones D/H totales. Posteriormente se realiza un balance de masas para calcular el hidrógeno intercambiable.

Los análisis isotópicos se realizaron en el laboratorio de Biogeoquímica de Isótopos Estables de la Estación Experimental del Zaidín (Granada). Para realizar el análisis isotópico se tomaron 0.8 mg de muestra y se introdujeron en una cápsula de plata, posteriormente las muestras se equilibraron con agua de composición isotópica conocida durante 8 horas. Una vez preparadas se introdujeron en el autosampler del TC/EA (High Temperature Conversión/Elemental Analyzer) Thermo Finnigan conectado a un IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry) Thermo Finnigan Delta Plus XL. Los datos de las muestras se expresan con la notación δ en relación al estándar de referencia V-SMOW, donde $\delta(\text{‰}) = (R_{\text{muestra}}/R_{\text{estandar}} - 1) * 1000$, donde $R = D/H$. La desviación estándar de estos análisis son $<3\text{‰}$.

3. Resultados y discusión

Los resultados de δD de celulosa extraída de 3 pinos de la especie *Pinus pinea* a los que se les dio las siglas A, D y F se han representado en las figuras 1, 2 y 3. En los gráficos se han incluido la pluviometría anual facilitada por el equipo de seguimiento de los procesos naturales de Doñana (<http://www-rbd.ebd.csic.es/Seguimiento/mediofisico.htm>); para fechas mas antiguas de 1979 se ha usado la serie pluviométrica anual reconstruida a partir de la estación Sevilla- Tablada para el período 1866-2005 (Custodio et al., 2005).

En la figuras 1, 2 y 3 se observa que los mínimos en pluviometría coinciden con los valores isotópicos menos negativos. Esto se debe a que cuando la precipitación es menor los procesos de evaporación tanto en las aguas superficiales como en el propio suelo dan lugar a proceso de enriquecimiento del isótopo pesado (D). Por otra parte, los procesos de evapotranspiración en la propia planta dan lugar a que el agua del interior de la hoja se enriquezca en isótopo pesado (Lawrence y White, 1984; Krishnamurthy y Epstein, 1985). Esto puede observarse, por ejemplo en las sequías de los años 1981, 1984 y 2005 en los que la precipitación fue de 300 mm, 456 mm y 276 mm, respectivamente, los valores isotópicos respectivos de la celulosa de estos años fueron de -27‰ , -22‰ y -15‰ (V-SMOW). También es destacable la sequía de los años 1990-1995 cuando la media de la precipitación total anual de estos seis años fue de 444 mm, el valor medio del δ^2H para estos mismos años es de -13‰ (V-SMOW). Por otro lado es interesante destacar que tras una dura sequía, como es ésta última (1990-1995), la respuesta del árbol a un año de intensa pluviometría, como el año 1996 (1181mm) se manifiesta por un alto fraccionamiento, registrándose uno de los valores más negativos de δ^2H (-50‰ vs V-SMOW). En años más lluviosos los procesos de evaporación de las aguas superficiales y suelos no se acumulan y, por otra parte, existe el llamado efecto “cantidad” que hace que cuando la precipitación es mayor el agua de lluvia será más negativa (Rozanski et al. 1993). Todo esto sumado explica los valores más negativos en la celulosa.

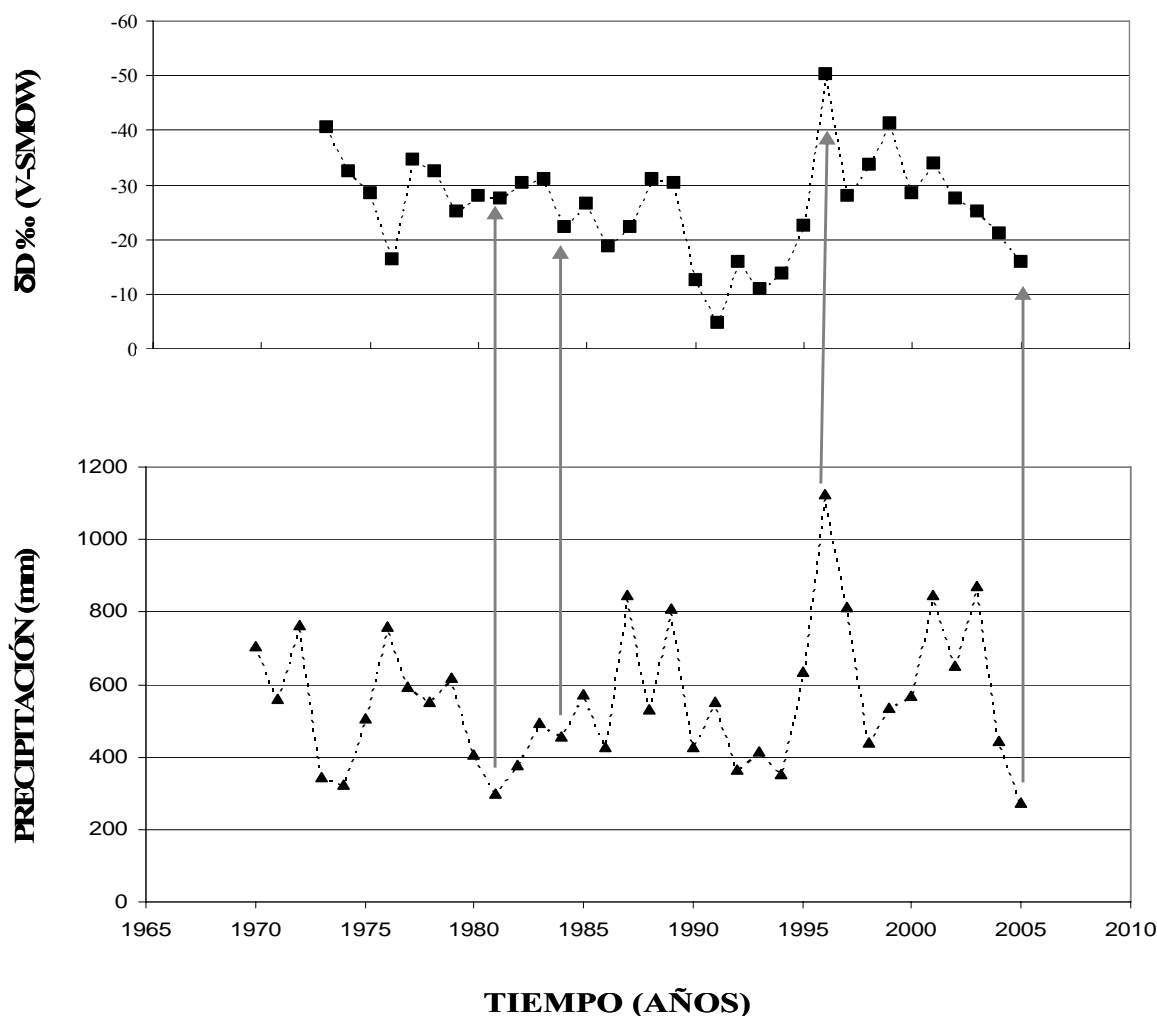


Figura 1. Relación de δD de celulosa de Pinus A con la precipitación

En la figura 2 (pino-D), donde también coinciden los máximos en pluviometría con valores isotópicos más empobrecidos en deuterio (más negativos), se observa por ejemplo, que en el año 1955, cuando la precipitación fue de 672 mm el valor isotópico para la celulosa es de -47‰ (V-SMOW). Lo mismo ocurre a comienzos de los 60, en los que se registran altas pluviometrías 1960 (1007mm), 1961 (827mm), 1962 (842mm) y 1963 (1003). La precipitación media de estos años fue de 929 mm y el valor medio isotópico para la celulosa de los años comprendidos entre 1961-1963 es de -43,6‰ (V-SMOW). También se observa tendencia hacia valores más negativos a finales de los 60 donde la media de precipitación entre los años 1969-1970 es de 847.5mm y los valores isotópicos medios para esos años son de $-51,86 \pm 1,1$ ‰ (V-SMOW). También se ha observado una buena correlación entre los años más secos 1954 (292mm), 1956 (490mm), 1964 (545mm) y 1966 (452mm), y los valores isotópicos de la celulosa siendo estos más positivos -27‰, -21‰, -26‰ y -33‰, respectivamente.

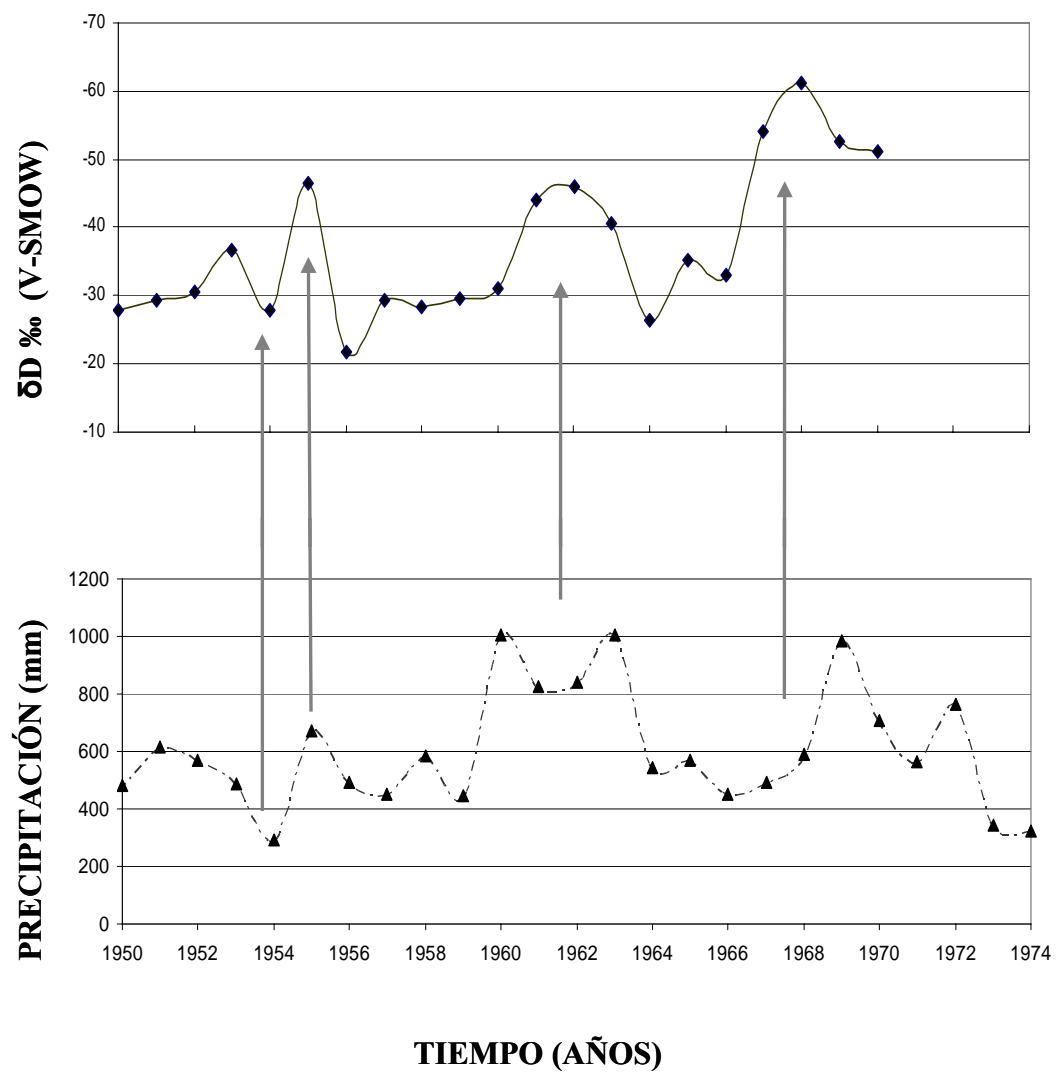


Figura 2. Relación de δD de celulosa de Pinus D con la precipitación

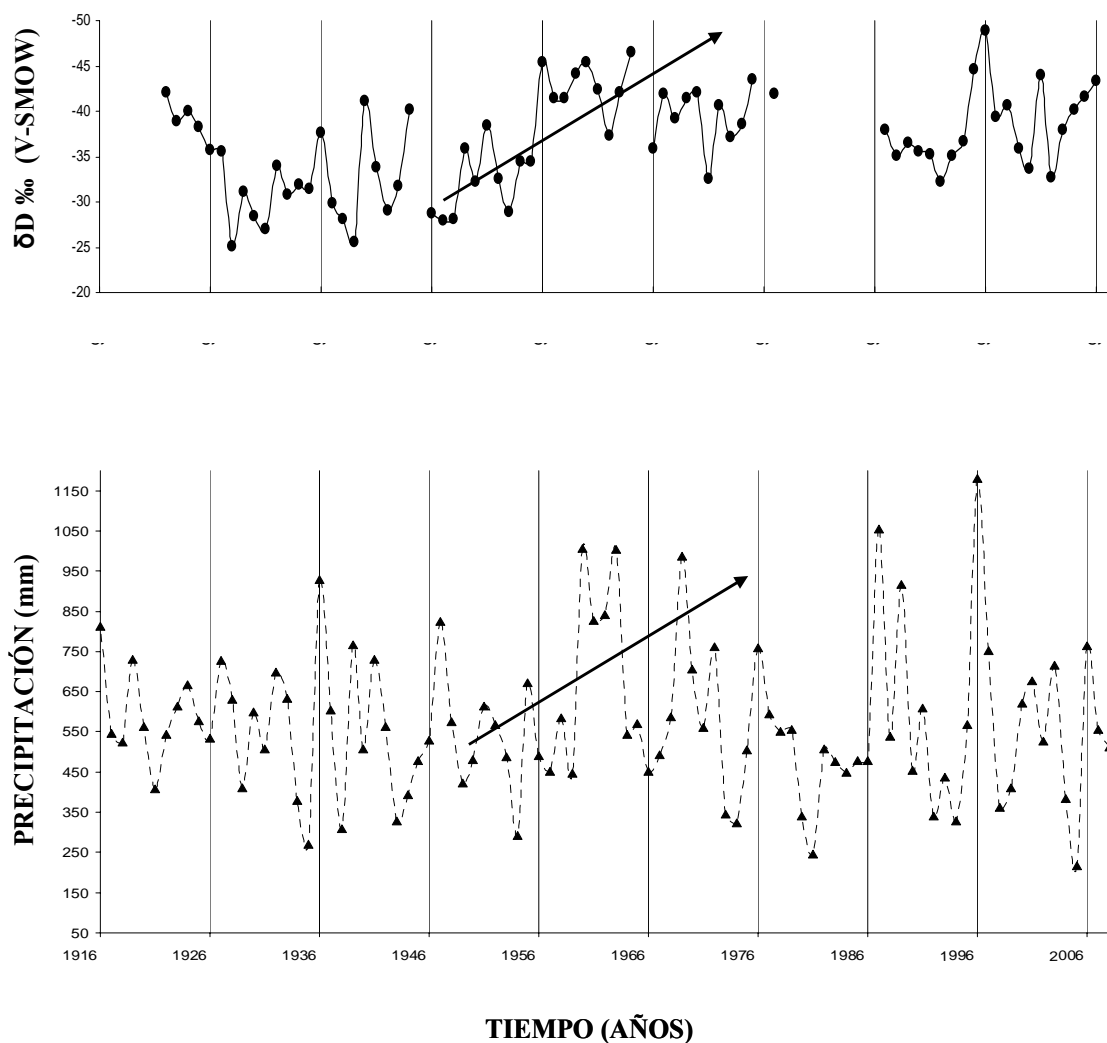


Figura 3. Relación de δD de celulosa de Pinus F con la precipitación

La figura 3 (pino-F), constituye un ejemplo más de la buena correspondencia entre cantidad de precipitación y valor isotópico. Destacan los años 1936, 1969 y 1996 de intensas pluviometrías (930mm, 987mm y 1181 mm respectivamente), en los que la señal isotópica es considerablemente más negativa -37‰, -41‰ y -48‰ (V-SMOW), además estos años se caracterizan por estar precedidos de años secos. Es interesante destacar, que como en el caso de los pino A y D, también coinciden los mínimos en pluviometría con los valores isotópicos más enriquecidos en deuterio. Esto se observa claramente de nuevo en las sequías de los años 1943, principios de los años 50, años 70 y la de principios de los 90, también aquí encontramos los valores isotópicos más positivos, comprendidos entre -28‰ y -32‰ (V-SMOW).

Las diferencias isotópicas entre los años más secos y los más húmedos que están entorno a un 20‰ para el pino F, 30‰ en el pino D y de hasta el 35‰ en el pino A, no son más que un reflejo de las diferencias que también se observan en la composición isotópica de las aguas del P. N. de Doñana en las que se aprecian diferencias similares o superiores. Así por

ejemplo, las aguas más negativas están entorno a -50‰ siendo los valores más negativos más frecuentes -30‰ (V-SMOW), mientras que los procesos de evaporación pueden conducir a valores relativamente frecuentes de -15‰ y mucho más enriquecidos en casos aislados de aguas superficiales muy expuestas a evaporación.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio nos permiten establecer las siguientes conclusiones:

- A pesar de la dificultad analítica de los isótopos de hidrógeno en la celulosa extraída de *Pinus pinea* existe una gran correlación con los datos de cantidad de precipitación de la zona estudiada (Parque Nacional de Doñana).
- Los años más secos en los tres casos de estudio coinciden, en general con los valores isotópicos menos negativos, debido al enriquecimiento de las aguas debido a procesos de evaporación que finalmente queda reflejada en valores más altos de δD en la celulosa de los anillos anuales de crecimiento.
- Los años más lluviosos, generalmente precedidos de años de fuertes sequías, se corresponden también con los valores isotópicos más negativos, en los tres casos estudiados.
- Es destacable el año 1996, el más lluvioso de las últimas décadas (1180mm), ya que se registra el valor isotópico más negativo tanto para Pinus A (-50‰ vs. V-SMOW) como para Pinus F (-48 ‰ vs. V-SMOW).
- Dada la gran correlación entre los valores isotópicos de hidrógeno de la celulosa de los anillos de crecimiento y los datos meteorológicos, es posible aplicar esta técnica a series temporales más largas, a fin de realizar reconstrucciones paleoclimáticas y paleohidrológicas.

5. Agradecimientos

El equipo de seguimiento y en general todo el personal de la Reserva Biológica de Doñana nos ha facilitado siempre la labor en los diferentes muestreos realizados en el P. N. de Doñana. Estamos especialmente agradecidos a Fernando Hiraldo (Director de la Estación Biológica de Doñana, CSIC) y a David Paz (equipo de seguimiento de la RBD) por sus orientaciones a la hora de seleccionar diferentes ambientes de muestreo y a localizar discos de las diferentes labores de aclareo que se han desarrollado en el parque. Este estudio ha sido financiado por los proyectos “Huellas isotópicas del cambio global en Andalucía” proyecto de excelencia de la Junta de Andalucía Ref.: P06-RNM-02362 y “Biogeoquímica de isótopos estables (D/H, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$) en el P. N. de Doñana” financiado por el M. M. Ambiente, convocatoria Parques Nacionales. Ref.: 107/2003.

6. Referencias

- Brendel, O., Ianneta, P.P.M., Steward, D., 2000. Phytochemical Analysis 11. 7-10
- Burk R. L. and Stuiver M., 1981 Science 211. 1417–1419.
- Custodio, E., Dolz, J. Manzano, M., 2005. Fund. Doñana 21. 190pp
- Craig H. and Gordon L. I., 1965 In Proceedings of a Conference on Stable Isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures ed. E. Tongiorgi. 9–130.

- Edwards and P. Fritz, 1986. *Applied. Geochemistry* 1. 715–723.
- Epstein S. and Yapp C. 1977 *Nature* 266. 477–478.
- Epstein S., Yapp C. J., and Hall J. H. 1976. *Earth and Planetary Science Letters* 30. 241–251.
- Equipo de Seguimiento de los procesos naturales de Doñana (<http://www-rbd.ebd.csic.es/Seguimiento/mediofisico.htm>)
- Estep M. F. and Hoering T. C. 1981 *Plant Physiology* 67. 474–477.
- Feng, X., Krishnamurthy, Epstein, S., 1993. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57. 4249–4256.
- Flanagan L. B. and Ehleringer J. R. 1991. *Plant Physiology* 97. 298–305.
- Heuser, E., 1944. *Cellulose Chemistry*. Wiley
- Holmes, R.L., 1983. *Tree ring bulletin* 43. 69-78
- Krishnamurthy R. V. and Epstein S. 1985 *Nature* 317, 160 – 162.
- Lawrence JR, White JWC 1984 *Nature* 311:558–560
- Libby, L.M., Pandolfi, L.J., Payton, P.H., Marshall III, J., Becker, B., Giertz-Siebenlist, V., 1976. *Nature* 261. 284–290.
- Luo Y. H. and Sternberg L. 1992 *Journal of Experimental Botany* 43. 47–50.
- Luo Y. H. and Sternberg L, 1991. *Phytochemistry* 30. 1095–1098.
- Rozanski K., Araguás L., y Gonfiantini R. (1993): *Geophysical Monograph* 78:1-36.
- Schimmelmann, A., 1991. *Analytical Chemistry* 63. 2456–2459.
- Sternberg L. S. L., DeNiro M. J., and Savidge R. A. , 1986 *Plant Physiology* 82. 423–427.
- Stokes, M. y Smiley, T., 1968. *The University of Chicago Press*. 1-120
- White J. W. C., Lawrence J. R., and Broecker W. S, 1994. *Geochimica. Cosmochimica Acta* 58. 851–862.
- Yakir D. 1992. *Plant, Cell and Environment* 15. 1005–1020.
- Yakir D. and DeNiro M. J. 1990 *Plant Physiology*. 93. 325–332.
- Yamaguchi, David K., 1991. *Canadian Journal of Forest Research* 21. 414-416
- Yapp, C.J., Epstein, S., 1982. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 46. 955–965.